

PCT/KR 02/00914

RO/KR 04.06.2002

REC'D 25 JUN 2002

청 PCT



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원 번호 : 특허출원 2001년 제 85666 호
Application Number PATENT-2001-0085666

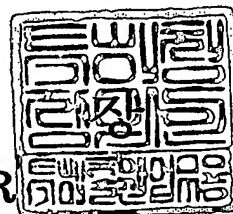
출원 년 월 일 : 2001년 12월 27일
Date of Application DEC 27, 2001

출원 인 : 주식회사 바이로박트
Applicant(s) VIROBACT INC.

2002 년 05 월 21 일

특 허 청

COMMISSIONER



**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

출력 일자: 2002/5/24

【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2001.12.27
【발명의 명칭】	신규한 락토바실러스 속 미생물 및 그 용도
【발명의 영문명칭】	Novel Lactobacillus sp. Strain And Using The Same
【출원인】	
【명칭】	주식회사 바이로박트
【출원인코드】	1-2000-031445-7
【대리인】	
【성명】	손민
【대리인코드】	9-1999-000420-6
【대리인】	
【성명】	이세진
【대리인코드】	9-2000-000320-8
【대리인】	
【성명】	김성남
【대리인코드】	9-1998-000150-9
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박순덕
【성명의 영문표기】	PARK,S00N DUCK
【주민등록번호】	570710-2520529
【우편번호】	152-051
【주소】	서울특별시 구로구 구로1동 한신아파트 2동 411호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이덕수
【성명의 영문표기】	LEE,DUCK S00
【주민등록번호】	550113-1005029
【우편번호】	158-092
【주소】	서울특별시 양천구 신월2동 507-4
【국적】	KR

출력 일자: 2002/5/24

【발명자】

【성명의 국문표기】 이진희
【성명의 영문표기】 LEE, JIN HEE
【주민등록번호】 641230-2037726
【우편번호】 440-320
【주소】 경기도 수원시 장안구 율전동 419 삼성아파트 204동 1302호
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 최성민
【성명의 영문표기】 CHOI, SUNG MIN
【주민등록번호】 540805-1030517
【우편번호】 431-080
【주소】 경기도 안양시 동안구 호계동 912 효성아파트 101동 402호
【국적】 KR

【심사청구】

청구

【조기공개】

신청

【미생물기탁】

【기탁기관명】 KCTC
【수탁번호】 KCTC 10132BP
【수탁일자】 2001. 12. 03

【핵산염기 및 아미노산 서열목록】

【서열개수】 1

【서열목록의 전자파일】 첨부

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대
리인
민 (인) 대리인
이세진 (인) 대리인
김성남 (인)

【수수료】

【기본출원료】	20	면	29,000	원
【가산출원료】	10	면	10,000	원
【우선권주장료】	0	건	0	원
【심사청구료】	10	항	429,000	원

출력 일자: 2002/5/24

【합계】	468,000 원
【감면사유】	소기업 (70%감면)
【감면후 수수료】	140,400 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 신규한 락토바실러스 속 미생물 및 그 용도에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 김치의 발효액으로부터 분리 동정된 신규한 락토바실러스 속 미생물인 락토바실러스 파라카제이 viro-01(*Lactobacillus paracasei*) 및 이를 포함하는 생균제 조성물, 사료 조성물, 소취제 조성물 및 식품 조성물을 제공한다.

본 발명의 락토바실러스 파라카제이는 내산성, 내담즙성 및 인체 안정성이 우수하며, 병원성 세균 억제활성을 지니고 있으며 장내 균총을 변화시켜 유익한 세균을 증가하게 하고 설사 발생도를 감소시키는 효과가 있으며 악취물질을 분해하는 소취효과 및 육류 또는 생선 조리시 연육효과와 소취효과가 있다.

【색인어】

락토바실러스 파라카제이, 내산성, 내담즙성, 병원성 세균 억제활성

【명세서】

【발명의 명칭】

신규한 락토바실러스 속 미생물 및 그 용도{Novel Lactobacillus sp. Strain
And Using The Same}

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<1> 본 발명은 신규한 락토바실러스 속 미생물 및 그 용도에 관한 것이다. 구체적으로, 본 발명은 김치의 발효액으로부터 분리 동정된 신규한 락토바실러스 속 미생물인 락토바실러스 파라카제이(Lactobacillus paracasei) 및 이의 생균제, 사료제, 소취제 및 식품 첨가물로서의 용도에 관한 것이다.

<2> 김치는 우리나라 고유의 발효식품으로서 배추나 무를 주원료로 하고 다양한 향신료를 첨가하여 발효시킨 채소발효식품이다. 김치의 발효에 관여하는 미생물에 대해서는 1930년대에 처음으로 연구되기 시작하였으며, 대표적으로는 락토바실러스 속 미생물, 페디오코코스 속(Pediococcus sp.) 미생물 및 루코노스톡 속(Leuconostoc sp.) 미생물 등과 같은 유산균류가 주종을 이루고 있다.

<3> 이 중에서 락토바실러스 속(Lactobacillus sp.) 미생물은 동형 또는 이형발효를 하는 젖산간균으로 사람을 포함한 동물의 장관 및 유제품이나 채소의 발효과정에서 흔

히 볼 수 있다. 락토바실러스 속 미생물은 장내 pH를 산성으로 유지시켜 대장균(E.coli)이나 클로스트리디움(Clostridium)과 같은 유해균의 번식을 억제하고 설사와 변비를 개선할 뿐만 아니라 면역기능, 비타민 합성, 항암작용, 혈청콜레스테롤 저하 등의 역할을 한다. 젖산간균에 의해 생산되는 아시도필린(acidophillin)은 이질균, 살모넬라균, 포도상구균, 대장균등의 성장을 저해한다고 알려져 있다. 또한, 설사 원인균의 증식을 억제하고 장내균총을 정상화함으로 설사를 멈추게 하는 작용을 한다.

<4>

최근에 락토바실러스 속 미생물의 상기와 같은 특성을 이용하여 생균제 및 가축 사료로 개발하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 가축의 세균성 설사병은 증체를 감소와 폐사를 유발한다. 따라서, 이를 예방하여 가축의 생산성을 높이고자, 사료에 항생물질을 첨가하는 것이 일반적으로 널리 행해져 왔다. 그러나 항생물질에 대한 내성균의 출현과 축산물 내 잔류 항생물질 등의 문제 때문에 사료내 항생물질의 사용을 규제하는 방향으로 정책이 추진되고 있으며 유기적인 가축 사양법이 강조되고 있다. 현재 항생물질 사용의 대체방법으로는 생균제(Probiotics)의 사용이 적극 권장되고 있다.

<5>

유럽특허 제0861905호에는 신규한 락토바실러스 속 균주 및 이를 포함하는 위장 질환의 치료를 위한 약학적 조성물 및 유제품이 개시된 바 있으며, 국제특허 제99/29833호에는 식품에 적용될 수 있는 생균제 및 천연약제로서 유용한 균주인 락토

바실러스 파라카제이가 개시된 바 있다. 대한민국특허공개 제1998-78353호에는 유해 미생물 억제 활성을 갖는 신규 내산성 락토바실러스 속 미생물 및 이를 함유하는 가축용 생균활성제가 개시된 바 있다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<6> 본 발명자들은 김치의 발효액으로부터 내산성, 내담즙성 및 유해 미생물 억제능력이 우수한 생리 활성을 갖는 신규한 락토바실러스 속 미생물을 분리 동정하였다. 본 발명의 미생물은 사람에게 대해 독성이 없어 매우 안전하며, 상기 미생물 또는 이의 발효액은 동물의 위장관 관련 질병의 예방 또는 치료를 위한 생균제, 사료제, 소취제 및 식품 첨가물로 사용될 수 있다.

<7> 따라서, 본 발명은 김치 발효액으로부터 분리한 신규한 락토바실러스 속 미생물을 제공한다.

<8> 본 발명은 상기 락토바실러스 속 미생물 또는 이의 발효액을 포함하는 것을 특징으로 하는 동물의 장질환 예방 및 치료를 위한 생균제 조성물을 제공한다.

<9> 본 발명은 상기 락토바실러스 속 미생물 또는 이의 발효액을 포함하는 것을 특징으로 하는 사료 조성물을 제공한다.

<10> 본 발명은 상기 락토바실러스 속 미생물 또는 이의 발효액을 포함하는 것을 특징으로 하는 소취제 조성물을 제공한다.

<11> 본 발명은 상기 락토바실러스 속 미생물 또는 이의 발효액을 포함하는 것을 특

정으로 하는 식품 조성물을 제공한다.

【발명의 구성】

<12> 본 발명은 김치 발효액으로 부터 분리한 신규한 락토바실러스 속(*Lactobacillus* sp.) 미생물을 제공한다. 본 발명에 따른 락토바실러스 속 미생물은 락토바실러스 파라카제이 viro-01(*Lactobacillus paracasei* viro-01)로 내산성, 내담즙성, 유해 미생물 억제활성 및 인체 안전성이 우수한 특성이 있다.

<13> 락토바실러스 속 미생물은 자연계에 널리 존재하며 탄수화물을 혐기적으로 이용하여 유산을 생산한다. 일반적으로 락토바실러스 속 미생물과 같은 유산균은 직접 혹은 간접적으로 식품에 첨가되어 이들의 대사산물인 유산에 의하여 식품의 저장성을 향상시키며, 식품의 향미와 조직을 개선한다고 알려져 있다. 또한, 발효식품을 통하여 섭취된 유산균은 장내로 유입된 후 장내 상피세포에 착생하게 되어 병원성 미생물의 저해 및 길항작용, 면역활성의 증진, 암 발생률의 감소, 그리고 발암원인성 효소의 감소 등 숙주 동물에 많은 도움을 준다. 따라서 유산균은 동서양을 막론하고 유제품, 육제품, 침채류 및 각종 젓갈류의 가공에 유용한 보조 수단 뿐만 아니라 생균제(probiotics)로도 이용되고 있다. 그런데, 유산균을 생균제로 이용하기 위해서는 그 유산균이 위산이나 담즙에 내성이 있어 장내 도달율이 높아야하며, 장내 상피세포나 점막에 흡착하여 정착할 수 있고, 바람직하게는 항균 물질을 분비하여 유해균을 억제함으로써 장을 안정화시킬 수 있고, 유해균의 장 정착을 방지하며 식품으로서

의 사용이 가능하고 안전해야 한다. 본 발명의 락토바실러스속 미생물 락토바실러스 파라카제이 viro-01(*Lactobacillus paracasei* viro-01)은 위 성질을 모두 갖추고 있는 신규한 미생물이다.

<14>

본 발명에 따른 락토바실러스 속 미생물의 분리 및 동정은 다음 방법에 의해 수행되었다. 먼저, 김치 발효액을 단계적으로 희석한 다음 유산균 선별 배지에서 배양하여 유산균만을 분리하고 이들 중 그람양성 간균인 균주를 선발한 다음 락토바실러스 선택배지에서 배양함으로써 락토바실러스 속 미생물을 분리하고 이 중에서 산생성능이 우수한 미생물을 최종적으로 분리하였다. 분리된 미생물의 동정은 형태학적, 배양학적, 생리학적 특성을 기초로 하여 버제스 매뉴얼(Bergey's manual)의 분류 및 기준에 따라 실시할 수 있으며, 그람 염색, 산소요구성, 영양요구성, 자화성, 대사에 의한 생성물, 효소반응, 항생물질 저항성과 같은 생리적 특성 등을 사용할 수 있고 DNA 염기 조성, 16S RNA 구조 분석을 이용하는 분자 유전학적 방법, 세포벽 구성성분, 전자 전달계의 퀴논형, 균체 지방산 조성(MIDI) 화학분류법, 및 면역학적 방법을 사용할 수 있다.

<15>

본 발명자들은 분리된 락토바실러스 속 미생물의 당 이용성 양상 및 16S rRNA(ribosomal RNA)의 염기서열 분석하여 동정하였으며, 동 미생물을 2001년 12월 3일자로 부다페스트 조약하의 국제기탁기관인 한국생명공학연구원 유전자은행 (Korean

Culture Center of Microorganisms)에 기탁번호 KCTC-10132BP로 기탁하였다.

- <16> 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC-10132BP)은 다음과 같은 특성을 지닌다.
- <17> 첫째로, 낮은 pH의 스트레스에서 살아남으며, 담즙산에도 생존력이 우수하다. 구체적으로, 본 발명의 락토바실러스 파라카제이 viro-01은 pH 3.0이하의 환경과 옥스알 농도 0.5% 환경에서도 생존할 수 있는 능력이 있다(실시예 2-1).
- <18> 둘째로, 본 발명의 락토바실러스 파라카제이 viro-01은 유해 미생물을 억제하는 활성이 있다. 상기 유해 미생물은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 대장균 (E.coli), 대장균 0157(E.coli 0157), 포도상구균(Staphylococcus aureus), 비브리오균(Vibrio parahaemolyticus), 살모넬라균(Salmonella typhi) 및 녹농균 (Pseudomonas aeruginosa)이 포함된다.
- 19> 셋째로, 본 발명의 락토바실러스 파라카제이 viro-01은 항생제에 대한 내성이 우수하다. 상기 항생제로는 세파렉신(Cephalexin), 플루메퀸(Flumequine), 퓨라졸리돈(Furazolidone), 스펙티노마이신(Spectinomycin), 가나마이신(Kanamycin), 겐타마이신(Gentamycin) 및 네오마인신(Neomycin)이 포함된다.
- 20> 넷째로, 본 발명의 락토바실러스 파라카제이 viro-01은 인체에 안전한 특성이 있다. 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이의 발효액은 고유의 색택과 향미를 가

지고 이미, 이취가 없으며 대장균군이 음성이다. 또한, 타르색소가 검출되지 않으며 유해 잔류 물질(Pb, Cd, Hg, As, Cr₁₆)이 검출되지 않아 인체에 안전하다.

<21>

본 발명의 락토바실러스 파라카제이는 통상적인 락토바실러스 속 미생물의 배양 방법에 의해 대량으로 배양할 수 있다. 배양배지로는 탄소원, 질소원, 비타민 및 미네랄로 구성된 배지를 사용할 수 있으며 예를 들어, MRS 브로스(de Man- Rogosa- Sharp broth) 및 우유가 첨가된 브로스를 사용할 수 있다. 미생물의 배양은 통상의 유산균 배양 조건상에서 가능하며 예를 들어, 온도범위 15℃ 내지 45℃에서 10시간 내지 40시간 동안 배양할 수 있다. 배양액 중의 배양배지를 제거하고 농축된 균체만을 회수하기 위해 원심분리(centrifugation) 또는 여과(filtration)과정을 거칠 수 있으며 이러한 단계는 당업자가 필요에 따라 수행할 수 있다. 농축된 균체는 통상적인 방법에 따라 냉동(frozen)하거나 또는 냉동건조(lyophilized)하여 그 활성을 잃지 않도록 보존할 수 있다.

<22>

본 발명의 미생물을 이용하여 유산균 발효액을 제조할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 락토바실러스 파라카제이를 과즙에 접종하고 혐기적으로 배양할 수 있다. 상기 과즙은 과일을 파쇄하여 제조한 즙액을 말하며, 과즙의 종류는 특별히 제한되지 아니한다. 사과즙, 오렌지즙, 포도즙 및 대추즙은 사용될 수 있는 과즙의 예이다. 상기 과즙은 정제수로 희석하여 당도를 1% 내지 15%로 조절한다. 여기에 본 발명에 따

른 락토바실러스 파라카제이 viro-01을 1%(v/v) 내지 5%(v/v) 접종하고 온도범위 15℃ 내지 45℃에서 10시간 내지 80시간 배양한다. pH를 측정하여 pH가 2.0 내지 4.0, 바람직하게는 2.8 내지 3.5에 도달하면, 산도가 2.0 내지 5.0, 바람직하게는 3.0 내지 4.0이 될 때까지 20℃ 내지 40℃로 약 5일 내지 10일간 배양한다. 이때, 약 24시간마다 1시간씩 폭기한다. 발효가 완료되면, 발효액을 회수한다. 발효액을 회수하고 난 다음, 배양기내에 남아 있는 유산균 균체 및 침전물에 정제수를 가하여 1배 내지 10배 비율, 바람직하게는 1배 내지 5배의 비율로 희석하고 상기와 동일한 방법으로 재발효를 수행한다. 재발효가 완료되면 발효액에 정제수를 가하여 1배 내지 10배, 바람직하게는 1배 내지 5배의 비율로 희석하고 숙성한다.

<23> 본 발명은 본 발명의 락토바실러스 파라카제이 viro-01 또는 이의 발효액을 포함하는 동물의 장질환의 예방 또는 치료를 위한 생균제 조성물을 제공한다. 본 발명의 생균제 조성물은 본 발명의 유산균 또는 그 발효액을 함유한 것으로 바람직하게는, 과즙에 유산균을 접종하여 제조한 유산균 과즙 발효액 또는 상기 유산균 과즙 발효액을 회수하고 남은 균체 및 침전물에 정제수를 가하여 희석한 다음 재발효시킨 발효액을 함유한다.

<24> '동물'은 사람을 포함하는 포유동물이며, 바람직하게는 소, 말, 돼지와 같은 가축을 포함한다. '장질환'으로는 이에 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어, 병원성 미

생물(대장균, 살모넬라, 클로스트리디움 등)에 의한 감염성 설사, 위장염, 염증성 장 질환, 신경성 장염 증후군, 소장 미생물 과성장증, 장 급이성 설사 등이 포함된다.

25>

'생균제(Probiotics)'는 살아 있는 균 즉, 사람이나 동물이 섭취했을 때 위장관에 머물러 생존할 수 있는 미생물로서 특정 병리적 상태를 예방하거나 치료할 수 있는 사람이나 동물에게 유익한 효과를 주는 미생물 제제를 말한다. 구체적으로, 미생물을 살아 있는 상태로 제제화한 의약품 또는 동물약품을 말한다. 일반적으로 생균제는 장내 세균총의 이상 발효에 의하여 야기되는 제반 증상을 치료하고 개선하는 효과가 있으며 사람 및 동물에 투여되면 장내의 소화관 벽에 밀집, 정착하여 유해균이 정착하지 못하게 하는 작용을 하며, 유산을 생성하여 장내의 pH를 낮추어서 유해세균이 증식하지 못하게 한다. 또한, 투여된 생균제는 박테리오신 (Bacteriocin)과 과산화물을 생성하여 병원균의 증식을 억제하며 영양분의 흡수를 담당하는 장용모의 활동을 도와준다. 이밖에도, 영양소의 흡수와 이용을 돕는 물질을 생성하고, 동물에 있어서 사료 요구율을 개선시키며, 병원균이 생성하는 독성물질을 중화하는 물질을 생성하기도 한다.

6>

본 발명의 생균제 조성물은 다양한 제형과 방법으로 제조 및 투여될 수 있다. 예를 들어, 유효량의 락토바실러스 파라카제이를 약제학적 분야에서 통상적으로 사용하는 담체와 혼합하여 제조할 수 있다. 유효량의 락토바실러스 파라카제이는 바람직하게는 10^7 마리/g 이상을 의미한다. 담체로는 예를 들어, 결합제, 활탁제, 붕해제, 부

형제, 가용화제, 분산제, 안정화제, 현탁화제, 색소 및 향료를 혼합하여 정제, 트포키, 캡슐, 엘릭시르, 서스펜션, 시럽, 웨이퍼(wafer), 산제, 과립제 등의 형태로 사용할 수 있다. 바람직한 투여방식으로는 경구 투여한다. 이외에 본 발명 약학 조성물은 각종 제형의 형태로 통용되는 기법에 따라 제조할 수 있다. 투여 용량은 체내에서 활성 성분의 흡수도, 불활성을 및 배설속도, 환자의 연령, 성별, 상태 및 치료할 질병의 증증정도에 따라 적절히 선택할 수 있다.

27>

본 발명은 락토바실러스 파라카제이 viro-01 또는 이의 발효액을 포함하는 사료 조성물을 제공한다. 본 발명의 사료 조성물은 본 발명의 유산균 또는 그 발효액을 함유한 것으로 바람직하게는, 과즙에 유산균을 접종하여 제조한 유산균 과즙 발효액 또는 상기 유산균 과즙 발효액을 회수하고 남은 균체 및 침전물에 정제수를 가하여 희석한 다음 재발효시킨 발효액을 함유한다. 본 발명에 따른 사료 조성물은 발효사료, 배합사료, 펠렛형태 및 사일리지 등의 형태로 제조될 수 있다. 상기 사료에 첨가되는 락토바실러스 파라카제이의 유효량은 10^7 개/g 이상이며, 바람직하게는 10^5 개/g 이상이다.

8>

발효사료는 여러 가지 미생물균 또는 효소들을 첨가함으로써 유기물을 발효시켜 제조할 수 있으며, 배합사료는 여러 종류의 일반사료와 본 발명의 락토바실러스 파라카제이를 혼합하여 제조할 수 있다. 펠렛형태의 사료는 상기 배합사료 등을 펠렛기에

서 열과 압력을 가하여 제조할 수 있으며 사일레지는 청예사료를 본 발명에 따른 유산균으로 발효시킴으로써 제조할 수 있다.

<29>

이 중에서 발효 사료는 발효가 완료되면 pH가 약 4.0으로 다른 종류의 유해 미생물 증식을 억제하므로 사료의 안정성과 저장성이 향상되며, 식물성단백질에 유산균과 효모균의 균체 단백질이 첨가됨으로써 사료기호도가 증진된다. 발효사료는 습식발효 사료화 방법과 발효건조 사료화 방법에 의해 제조할 수 있다. 습식발효사료는 음식물쓰레기 등과 같은 유기물을 수집 및 운반하여 살균과정과 수분조절을 위한 부형재를 일정비율 혼합한 후 50℃ 내지 60℃ 내외의 온도에서 24시간 이상 발효하여, 수분함량이 약70%로 조절하여 제조한다. 발효건조사료는 음식물쓰레기 등과 같은 유기물에 에너지, 단백질, 섬유소 및 미생물을 적당량 첨가하여 60℃내외의 온도에서 24시간 이상의 발효 및 건조과정을 통하여 생산된 사료의 수분함량이 30% 내지 40%정도로 조절하여 제조한다.

30>

본 발명자들은 본 발명의 유산균 발효액을 음수에 첨가하여 모돈 및 자돈에 급여한 결과, 폐사율 및 설사발생도가 감소하였으며 일당 증체량이 증가하는 효과를 확인하였다(실시에 5). 또한, 본 발명의 유산균 발효액을 급여한 이유 자돈의 장내 미생물 변화를 측정한 결과, 병원성 미생물인 살모넬라와 대장균의 수가 감소되었으며 유산균의 수가 현저하게 증가하였다(실시에 6).

<31>

또한, 본 발명은 락토바실러스 파라카제이 viro-01 또는 그 발효액을 포함하는 소취제 조성물을 제공한다. '소취'는 악취를 제거하는 것을 말하며, 그 기전은 마스킹 및 감각중화에 의한 방법, 산과 알칼리의 중화반응, 화학반응에 의한 화학적 방법, 흡착활성탄, 식물추출 엑기스에 의한 물리적 방법 및 효소분해에 의한 생물적 방법 등이 있다. 본 발명의 소취제 조성물은 본 발명의 유산균 또는 그 발효액을 함유한 것으로 바람직하게는, 과즙에 유산균을 접종하여 제조한 유산균 과즙 발효액 또는 상기 유산균 발효액을 회수한 다음 남아 있는 균체 및 침전물을 정제수를 가하여 회석한 후 재발효시킨 발효액을 함유한다. 본 발명에 따른 소취제는 유산균 과즙 발효액을 여과하고 정제수로 회석하여 제조할 수 있다. 본 발명의 소취제 조성물은 악취의 원인이 되는 트리메틸아민, 황화수소, 암모니아 및 메틸메르캅탄 등을 분해하는 능력이 우수함을 확인하였다(실시예 7).

32>

또한, 본 발명은 락토바실러스 파라카제이 viro-01 또는 이의 발효액을 포함하는 식품 조성물을 제공한다. 본 발명의 식품 조성물은 본 발명의 유산균 또는 그 발효액을 함유한 것으로 바람직하게는, 과즙에 유산균을 접종하여 제조한 유산균 과즙 발효액 또는 상기 유산균 발효액을 회수한 다음 남아 있는 균체 및 침전물을 정제수를 가하여 회석한 후 재발효시킨 발효액을 함유한다. 본 발명의 식품 조성물은 상기 유산균 과즙 발효액을 여과한 다음 이를 정제수로 회석하여 제조할 수 있다. 본 발명의

식품 조성물은 육류 또는 어류에 있어서 연육 작용 및 불쾌취를 저감하는 효과가 있다. 본 발명자들은 상기 조미식품 조성물을 돼지갈비찜, 제육볶음, 소불고기, 소갈비찜, 닭도리탕, 닭튀김, 고등어조림, 생선매운탕 및 김치찌개 등에 적용한 결과, 연육 작용 및 소취작용이 우수함을 확인하였다(실시예 8).

33> 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예들은 본 발명을 예시하는 것으로 본 발명의 내용이 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

34> <실시예>

35> 실시예 1

36> 락토바실러스 속 미생물의 분리 및 동정

7> 1-1) 김치로부터 락토바실러스 속 미생물의 분리

8> 전통의 방법대로 배추김치를 제조하여 25℃에서 20일간 발효하였다(pH 4.0±0.2). 상기 발효된 김치액 1ml를 멸균한 생리식염수로 $10^1 \sim 10^7$ 까지 단계적으로 희석한 다음 각 희석액 0.1ml를 BHI(Brain Heart Infusion, Difco, USA) 배지에 접종

하여 37℃에서 72시간 배양하였다. 배양된 균체를 유산 생성에 의해 배지의 색이 자주색에서 노란색으로 변하는 유산균 측정용 배지인 BCP (brom cresol purple)아가배지에서 배양하여 유산생성이 우수한 균주를 1차적으로 분리하였다. 분리된 균주 중에서 간균인 미생물을 선별하기 위해 그람염색하고 현미경 검사를 실시하였다. 그람양성으로 나타난 간균 형태의 미생물을 선별한 후 락토바실러스 속 균들 만 분리하기 위해 LBS(락토바실러스 선택, Lactobacillus selective) 배지를 사용하여 30℃에서 48시간 항온기에서 배양하였다.

39> 실험 결과, 1차적으로 분리된 균주는 30균주였으며 이 중에서 락토바실러스 속 균주로 추정되는 10균주를 선별하였다. 이들 균주를 BHI 배지에 계대배양하였다.

40> 1-2) 분리한 균주의 동정

41> 상기 실시예 1-1에서 분리한 균주를 멸균한 과즙에 접종한 후 발효시켜 자체적으로 발효액의 pH를 3.0 이하로 떨어뜨리는 2 균주를 선별하였다. 선별된 2 균주를 API CHL 키트(Bio Merieux 사)를 이용하여 공급회사의 실험방법에 따라 기질 이용성 양상을 분석하였다. API 키트에 의한 분석 결과는 표 1에 나타낸 바와 같다.

42> 본 발명의 유산균의 보다 정확한 동정을 위해 상기 균의 게놈 DNA 중 미생물의 동정에 매우 유효한 것으로 알려진 16S rRNA의 염기서열을 자동염기서열결정기로 결정하였다. 16S rRNA의 염기서열은 서열번호 1에 나타낸 바와 같다. 이상의 결과로부터

본 발명의 균주는 락토바실러스 파라카제이(*Lactobacillus paracasei*)로 동정되었다.

<43>

【표 1】

선별된 균주의 기질 이용성 양상

시험 항목	콜로니 1		콜로니 2		No.
Contor	-	-	-	-	0
글리세롤(Glycerol)	-	-	-	-	1
에리쓰리톨(Erythritol)	-	-	-	-	2
D-아라비노스(D-Arabinose)	-	-	-	-	3
L-아라비노스(L-Arabinose)	-	-	-	-	4
리보스(Ribose)	+	+	+	-	5
D-자일로스(D-Xylose)	-	-	-	-	6
L-자일로스(L-Xylose)	-	-	-	-	7
아도니톨(Adonitol)	+	+	+	-	8
β -메틸-자일로사이드(β -methyl-xyloside)	-	-	-	-	9
갈락토스(Galactose)	+	+	+	-	10
D-글루코스(D-Glucose)	+	+	+	-	11
D-프럭토스(D-Fructose)	+	+	+	-	12
D-만노스(D-Mannose)	+	+	+	-	13
L-솔보스(L-Sorbose)	-	-	+	-	14
람노스(Rhamnose)	-	-	-	-	15
둘시톨(Dulcitol)	-	-	-	-	16
이노시톨(Inositol)	-	-	-	-	17
만니톨(Mannitol)	+	+	+	-	18
솔비톨(Sorbitol)	+	+	+	-	19
α -메틸-D-만노사이드(α -methyl-D-mannoside)	-	-	-	-	20
α -메틸-D-글루코사이드(α -methyl-D-glucoside)	-	-	+	-	21
N-아세틸 글루코사민(N-Acetyl-glucosamine)	+	+	+	-	22
아미그달린(Amygdaline)	-	+	+	-	23
알부틴(Arbutine)	+	+	+	-	24
에스컬린(Esculine)	+	+	+	-	25
살리신(Salicine)	+	+	+	-	26
셀로비오스(Cellobiose)	+	+	+	-	27
말토스(Maltose)	+	+	+	-	28
락토스(Lactose)	-	-	-	-	29

<44>

멜리비오스(Melibiose)	-	-	-	-	30
사카로스(Saccharose)	-	+	-	+	31
트레할로스(Trehalose)	+	+	+	-	32
이눌린(Inuline)	-	-	-	-	33
멜레지토스(Melezitose)	+	+	+	-	34
D-라피노스(D-Raffinose)	-	-	-	-	35
아미돈(Amidon)	-	-	-	-	36
글리코겐(Glycogen)	-	-	-	-	37
자일리톨(Xylitol)	-	-	-	-	38
β -젠티오비오스(β -Gentiobiose)	-	+	+	-	39
D-튜라노스(D-Turanose)	+	+	+	-	40
D-라이조스(D-Lyxose)	-	-	-	-	41
D-타가토스(D-Tagatose)	+	+	+	-	42
D-퓨코스(D-Fucose)	-	-	-	-	43
L-퓨코스(L-Fucose)	-	-	-	-	44
D-아라비톨(D-Arabitol)	-	-	-	-	45
L-아라비톨(L-Arabitol)	-	+	-	+	46
글루코네이트(Gluconate)	+	+	-	+	47
2-아세토-글루코네이트(2-aceto-gluconate)	-	-	-	-	48
5-아세토-글루코네이트(5-aceto-gluconate)	-	-	-	-	49

<45>

실시에 2

<46>

본 발명의 락토바실러스 파라카제이 균주의 특성 조사

<47>

2-1) 내산성 및 내담즙성 시험

<48>

pH를 2.0과 3.0으로 적정한 0.85% 염수에 상기 실시예 1에서 분리한 락토바실러스 파라카제이 균주를 현탁한 후 37℃에서 시간별로 배양하였다. 배양액을 10진법으로 희석하여 MRS배지에 도말한 후 나타난 콜로니 수를 계수하였다. 그 결과, 시험 균주 모두 생육하였으며 이로부터 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이가 내산성이 있음을 확인할 수 있었다.

<49>

내담즙성 시험은 균주를 MRS 액체배지에서 배양한 후 옥스갈(oxagal, Difico

사)을 0.2%, 0.3%, 0.5%, 0.7% 및 1.0%로 첨가한 MRS 아가배지에 도말하여 37℃에서 배양시킨 다음 균주의 생장 여부를 확인하였다. 실험 결과, 옥스갈 농도 0.5%이하에서 모든 균주가 생장하였다.

<50> 2-2) 유해 미생물 억제 활성 측정

<51> 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이 균주의 유해 미생물 억제 활성을 측정하였다. 유해 미생물로는 대장균(*Escherichia coli*, ATCC 25922), 대장균 0157(*Escherichia coli*, 0157, ATCC 43895), 포도상구균(*Staphylococcus aureus*, ATCC 25923), 비브리오균(*Vibrio parahaemolyticus*, KCTC 2471), 살모넬라균(*Salmonella typhi*, KCTC 2424), 녹농균(*Pseudomonas aeruginosa*, KCTC 1636)을 BHI 액체배지에 증균시켜서 시험에 사용하였으며, 캔디다균(*Candida albicans*, KCTC 7965)은 SDB(Sabouraud Dextrose broth)를 사용하였다.

52> 멸균된 생리식염수에 상기 유해 미생물을 접종하여 초기 균수를 측정한 후 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이 균주를 1%(v/v)되도록 첨가하여 실온에 방치하였다. 30초 후, 2분 후, 5분 후, 24시간 후에 균수를 측정하여 초기 균수에 대한 감소율을 조사하였다.

53> 실험 결과, 표 2에 나타낸 바와 같이 캔디다균 외에 다른 6가지의 균에 대해 상당한 살균효과를 보였으며, 특히 비브리오균에 대한 효과는 아주 탁월하여 30초 후부

터 빠른 균 감소효과를 보였고 5분 후에는 95.6%가 감소하였으며 24시간 후에는 완전히 사멸하였다. 또한, 살모넬라균에 대해서도 큰 살균효과를 보였고, 다른 대장균이나 포도상구균, 녹농균에 대해서도 높은 살균력을 나타냈다.

<54>

【표 2】

본 발명의 락토바실러스 파라카제이의 유해 미생물 억제 활성

균주 /시간(감소율)	초기 균수	30초 후 균수	2분 후 균수	5분후 균수	24시간 후 균수
대장균	3.1×10^5	2.8×10^5 (9.7%)	2.6×10^5 (16.1%)	2.3×10^5 (25.8%)	67.7%
대장균 0157	2.8×10^5	2.5×10^5 (10.7%)	2.4×10^5 (14.3%)	2.1×10^5 (25.0%)	71.4%
포도상구균	2.7×10^5	2.2×10^5 (18.5%)	1.4×10^5 (48.1%)	1.0×10^5 (63.0%)	74.1%
비브리오균	1.1×10^5	7.5×10^4 (31.8%)	2.4×10^4 (78.2%)	4.8×10^3 (95.6%)	100%
살모넬라균	3.2×10^5	2.8×10^5 (12.5%)	2.1×10^5 (34.4%)	1.0×10^5 (68.8%)	99.7%
녹농균	4.8×10^5	4.6×10^5 (4.2%)	4.2×10^5 (12.5%)	3.8×10^5 (20.8%)	70.8%
캔디다균	3.4×10^5	3.4×10^5 (0.0%)	3.4×10^5 (0.0%)	3.3×10^5 (2.9%)	0%

55>

2-3) 항생제에 대한 내성 및 감수성 시험

56>

본 발명에 따른 락토바실러스 항생제에 대한 내성 및 감수성을 시험하였다. 항생제 내성 시험은 한국 식품의약품안전청으로부터 공인받은 (주)과학기술분석센터(대전광역시 대덕구)에 의뢰하여 수행하였다. 항생제로는 세파렉신(Cephalexin), 플루메퀸(Flumequine), 퓨라졸리돈(furazolidone), 겐타마이신(Gentamycin), 스펙티노마이신(Spectinomycin), 테트라사이클린(tetracycline), 티아몰린(Tiamulin), 네오마이신(Neomycin), 클로람페니콜(Chloramphenicol) 및 가나마이신(Ganamycin)을 사용하

였고 시험방법은 다음과 같다.

<57> 순수배양된 락토바실러스 파라카제이 집락을 4 내지 5개 선별하여 펩톤 10.0g/L, 소고기 추출물 10.0g/L, 효모 추출물 5.0g/L, 포도당 20.0g/L, 트윈 80 1.0mL/L, K_2HPO_4 2.0g/L, 아세트산 나트륨 5.0g/L, 구연산 트리암모늄(Triammonium citrate), 2.0g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g/L 및 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 0.2g/L로 구성된 증균용 배지에 접종하여 37℃에서 배양하였다. 상기 배양액의 탁도를 MacFarland No. 0.5로 조절하여 시험 균액으로 사용하였다. 상기 시험 균액을 물러 힌톤 한천(Mueller Hinton agar) 평판배지에 도말한 후 항생제 감수성 테스트용 디스크를 올려놓고 37℃에서 16시간 배양하였다. 배양이 완료되면, 육안으로 확인하여 시험균주의 발육이 완전히 억제된 곳을 발육억제대의 한계선으로 간주하고 디스크 직경을 포함한 발육억제대의 직경을 측정함으로써 항생제 감수성 또는 내성 여부를 조사하였다.

58> 실험 결과, 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이는 세파렉신, 플루메퀸, 퓨라졸리돈, 스펙티노마이신 및 가나마이신에 대해 내성을 나타내었다. 또한, 겐타마이신, 네오마이신에는 중정도의 내성을 나타내었다. 한편, 테트라사이클린, 티아몰린, 클로람페니콜에는 내성을 나타내지 않았다(표 3).

9> 【표 3】

본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이의 항생제 내성 및 감수성 시험

항생제 종류	함량 (μ g/disc)	발육억제대 (mm)	판정	발육억제대 해석(mm)		
				내성	중정도	감수성
세파렉신	10	0	내성강함	11이하	12~13	14이상
플루메퀴	10	0	내성강함	12이하	13~16	17이상
푸라졸리돈	10	0	내성강함	11이하	12~13	14이상
젠타마이신	10	13	중정도의 내성	12이하	13~14	15이상
스펙티노마이신	10	0	내성강함	11이하	12~13	14이상
테트라사이클린	30	30	내성없음	14이하	15~18	19이상
티아몰린	10	28	내성없음	11이하	12~13	14이상
네오마이신	10	13	중정도의 내성	12이하	13~16	17이상
클로람페니콜	30	30	내성없음	12이하	13~17	18이상
가나마이신	10	9	내성강함	13이하	14~17	18이상

0> 실시예 3

1> 본 발명의 락토바실러스 파라카제이를 이용한 유산균 과즙 발효액 제조 및 안전성 검사

2> 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이를 이용하여 발효제품을 제조하고 그 안전성을 검사하였다. 상기 발효제품은 성숙한 과일의 즙에 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이를 접종시켜 발효시켜 유산균 과즙 발효액을 제조하였다. 본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이 viro-01을 MRS 브로스에 접종하여 37℃에서 48시간 배양하고, 멸균된 사과과즙 50%, 오렌지즙 20%, 포도즙 20% 및 대추즙 10%로 구성된 혼합과즙에 2%를 접종하여 30℃에서 혐기적으로 발효시켰다. 상기 혼합과즙은 정제수로 5브릭스가 되도록 희석하여 당도가 5%가 되도록 조절하였다. 72시간 경과 후에 pH를 측정하여 pH가 3.0에 도달하면 산도 4.0이 될 때까지 24시간 마다 1시간씩 폭기하면서

30℃에서 약 7일간 발효하였다.

<63> 본 발명에 따른 유산균 과일 발효액의 대장균군 조사, 세균수 조사 및 타르색소 함량을 식품공전(고시 제2000-18호, 식품의약품안전청)의 일반시험법에 따라 조사하였다. 실험 결과, 식품 유형의 규격(고유의 색택과 향미를 가지고 이미, 이취가 없어야 한다. 대장균군은 음성이어야 한다, 타르색소는 검출되어서는 안된다, 보존료 기준에 적합하여야 한다)에 적합하여 식품 공전 14-8 소스류 적합판정을 얻었으며, 유해 잔류 물질(Pb, Cd, Hg, As, Cr₁₆)이 검출되지 않았다.

:64> 실시에 4

65> 본 발명의 락토바실러스 파라카제이를 이용한 유산균 과즙 재발효액의 제조

66> 상기 실시예 3의 유산균 과즙 발효액을 회수한 다음 남아 있는 균체 및 침전물을 이용하여 재발효를 실시하였다. 남아 있는 균체 및 침전물에 정제수를 가하여 5배로 희석하고 30℃에서 혐기적으로 발효하였다. 72시간 경과 후에 pH를 측정하여 pH가 3.0에 도달하면 산도 4.0이 될 때까지 24시간마다 1시간씩 폭기하면서 30℃에서 약 7일간 발효하였다. 발효가 완료되면, 발효액에 정제수를 가하여 5배로 희석하고 숙성시켰다.

<67>

실시예 5

<68>

본 발명의 락토바실러스 파라카제이 발효액의 모돈 및 자돈에 대한 설사 예방 및 증체 효과

<69>

본 발명에 따른 락토바실러스 파라카제이 발효액이 모돈 및 자돈에 대한 설사 예방 및 증체효과를 조사하였다. 안성에 위치한 모돈 250두 규모의 일괄사육농장에서 각 군당 모돈 3마리, 자돈 30마리 씩 3군으로 구분하여 2일 내지 10일 이상 본 발효액을 경구 투여하였다. 이때 1군은 본 발명의 발효액을 10일간 투여한 다음 10일 이후부터는 음수에 0.2%를 첨가하여 투여하였다. 2군은 2일~10일 이상 생리식염수를 투여하고 10일 이후부터는 생리식염수 0.2%를 음수에 첨가하여 투여하였다. 3군은 2일~10일 이상 생리식염수를 투여하고 10일 이후에는 투여하지 않았다(표 4). 상기 실험군의 폐사율, 설사 발생율, 및 이유 증체 효과를 조사하였다

70>

【표 4】

본 발명에 따른 시험군 및 발효액 투여량

시 험 군	모 돈 수	자 돈 수	투 여 량(ml)									비 고
			2일	3일	4일	5일	6일	7일	8일	9일	10일 이상	
1	3	30	2	2	3	3	5	5	7	7	10	본 발효액 경구투여(ml), 10일 이후음수투여(0.2%)
2	3	30	2	2	3	3	5	5	7	7	10	생리식염수경구투여(ml), 10일 이후음수투여(0.2%)
3	3	30	2	2	3	3	5	5	7	7	10	생리식염수경구투여(ml), 10일 이후 무투여

<71> 실험 결과, 조기 설사와 이유시 사료 급여에 대한 설사가 발생하는 농장에서 본 유산균 발효액을 투여시 폐사율이 6.6% 감소하였고, 설사 발생도 약 53%-87%정도 감소하였다. 일당 증체량도 최고 5.9% 개선되었다. 이로서 포유 자돈 및 이유 자돈에 본 유산균 발효액을 0.2% 음수 투여시 설사로 인한 폐사율 감소와 설사빈도의 감소, 개체별 증체에 효과가 있다는 것을 확인하였으며, 본 유산균 발효액의 0.1%-0.2% 음수 투여가 농장의 생산성 향상에 기여한다는 것을 알 수 있었다.

<72> 실시예 6

<73> 본 발명의 유산균 발효액을 급여한 이유 자돈의 장내 미생물 변화 측정

<74> 본 발명의 유산균 발효액 급여에 의한 이유 자돈의 장내 미생물 변화를 조사하기 위해 전북대학교 축산학과에서 산학협동으로 현장 사육 시험을 하였다. 실험은 본 발명의 유산균 발효액을 급여하지 않은 대조구, 시판 항생제 0.1%를 급여한 처리구 및 음수에 0.1%의 본 발명의 유산균 발효액을 급여한 처리구를 각각 설정하고 각 처리구 당 암수 각각 6두씩 12두를 배치하였다. 시험기간은 8주간으로 하여 장내 미생물의

수를 비교하였다.

<75>

실험 결과, 회장에서 병원성 미생물인 살모넬라와 대장균의 수가 대조구에 비해 본 발명의 유산균 발효액을 급여한 처리구와 항생제를 급여한 처리구에서 감소하였고 장내 유익균인 유산균의 수는 본 발명의 유산균 발효액을 급여한 처리구에서 현저하게 증가하는 경향을 보였다. 미생물의 저장소로 알려진 맹장에서는 살모넬라는 검출되지 않았으며, 대장균은 항생제 처리구에서 존재하지 않았고, 본 발명의 유산균 발효액을 급여한 처리구에서도 대조구에 비하여 낮게 나타났다. 맹장에서의 유산균 수는 본 발명의 유산균 발효액을 급여한 처리구에서 증가하는 경향을 보였다(표 5).

<76>

【표 5】

본 발명의 유산균 발효액을 급여한 이유 자돈의 장내 미생물 변화 측정

처리구(%)	회장 (CFU)				맹장(CFU)			
	살모넬라	대장균	이스트	락토바실러스	살모넬라	대장균	이스트	락토바실러스
대조구	2.0×10^3	1.0×10^4	2.3×10^4	1.2×10^4	0	5.0×10^4	3.0×10^4	1.1×10^5
항생제0.1	0	3.0×10^3	1.8×10^4	1.8×10^4	0	0	0	4.7×10^5
발효액0.1	1.0×10^3	6.0×10^3	3.0×10^3	2.5×10^5	0	2.0×10^3	1.0×10^4	6.0×10^5

<77>

실시예 7

<78>

본 발명의 소취제 조성물의 탈취 능력 시험

<79>

본 발명의 유산균 발효액을 정제수로 150배 희석한 다음 탈취 시험용 장치 내의 악취 발생원의 분해 정도를 조사하였다. 악취 발생원으로는 메틸메르캅탄은 50ppm, 암모니아, 트리메틸아민, 황화수소는 각각 60ppm를 사용하였으며 이를 탈취 시험용 장치에 악취가스 농도를 가스텍으로 측정하여 조절하면서 주입하였다. 본 발명의 유산균 발효액을 150배 희석하여 분사기를 통해 20ml을 분사시킨 후 30분, 1시간, 6시간 후에 각각의 농도를 측정하였다.

<80>

실험 결과, 염기성 휘기물인 암모니아와 트리메틸아민에 대한 탈취력이 6시간 후에 초기 농도에 비해 각각 85%, 80%의 제거율을 보였으며, 산성 휘기물인 메틸메르캅탄과 황화수소에 대한 탈취력은 6시간 후에 초기농도에 비해 각각 24%, 47%의 제거율을 보였다(표 6).

81>

【표 6】

본 발명의 소취제 조성물의 탈취 능력

악취물질	초기	30분 후	1시간 후	6시간 후
암모니아	60	19	18	9
트리메틸아민	60	28	26	12
메틸메르캅탄	50	45	45	38
황화수소	60	40	40	32

82>

실시예 8

<83>

본 발명의 유산균 발효액의 육류 및 어류에 있어서 연육효과 및 소취 효과

<84>

본 발명의 유산균 발효액으로 제조한 천연 유산균 식품 첨가물을 육류 및 어류 조리에 첨가했을 때의 불쾌취 저감효과와 연육 작용 효과를 시험하였다. 본 발명의 식품 첨가물은 본 발명의 유산균 발효액을 정제수로 50배 희석한 것이다. 이를 돼지 갈비찜, 제육볶음, 소불고기, 소갈비찜, 닭도리탕, 닭튀김, 고등어조림, 생선매운탕 및 김치찌개에 첨가하여 음식을 조리한 다음 냄새, 질긴 정도 및 맛의 각 특성치에 대해 0 내지 10의 단계로 관능검사를 실시하였다. 관능검사 결과는 분산분석과 던칸의 다중범위검사를 이용하여 통계 처리하여 유의도를 검사하였다. 이때, 시판되는 정종을 처리하여 조리한 경우를 대조구로 하여 비교하였다. 본 발명의 천연 조미식품과 정종의 첨가량을 육류와 어류 모두 500g 기준 2큰술 정도로 하였으며 육류와 어류를 먼저 유산균 조미식품 또는 정종으로 버무려 놓은 후에 다른 조리조작으로 이행하였다.

85>

실험 결과, 본 발명의 식품 첨가물이 정종에 비해 육류 및 어류의 냄새 제거에 우세한 작용을 하는 것으로 유의성 있게 나타났다. 연육 작용과 맛의 결과를 함께 살펴봐도 본 발명의 식품 첨가물이 훌륭한 천연 조미료의 역할을 함을 확인할 수 있었다(표 7a 내지 표 7c).

<86>

【표 7a】

본 발명의 식품 첨가물의 육류 및 어류에 있어서 연육효과 및 소취효과

	돼지갈비찜			제육볶음			소불고기		
	냄새	질긴정도	맛	냄새	질긴정도	맛	냄새	질긴정도	맛
1	1.650 ^c	1.9625 ^b	7.7375 ^a	1.1250 ^b	0.9375 ^b	7.7125 ^a	2.3125 ^b	2.8375 ^b	7.6250 ^a
2	2.5875 ^b	2.4125 ^b	7.4500 ^a	1.7875 ^b	1.1375 ^b	7.6000 ^a	2.3250 ^b	2.9875 ^b	7.0500 ^a
3	5.2125 ^a	5.0875 ^a	5.2250 ^b	3.4250 ^a	3.8500 ^a	5.9875 ^b	4.3375 ^a	4.7375 ^c	5.5250 ^b
F 치	81.41	59.96	28.64	16.68	82.38	39.74	23.14	10.30	14.62
유의성	***	***	***	***	***	***	***	***	***

<87>

【표 7b】

본 발명의 식품 첨가물의 육류 및 어류에 있어서 연육효과 및 소취효과

	소갈비찜			닭도리탕			닭튀김		
	냄새	질긴정도	맛	냄새	질긴정도	맛	냄새	질긴정도	맛
1	1.1875 ^c	1.8875 ^c	8.1125 ^a	1.4375 ^c	2.2250 ^b	7.7125 ^a	1.2500 ^b	2.125 ^b	8.2625 ^a
2	1.8000 ^b	2.4125 ^b	7.7625 ^a	2.1125 ^b	2.2875 ^b	7.2250 ^a	1.7000 ^b	2.2652 ^b	7.4000 ^a
3	3.0125 ^a	3.3625 ^a	6.0250 ^b	4.3875 ^a	3.7375 ^a	5.3375 ^b	3.6375 ^a	4.1375 ^a	6.1000 ^b
F 치	22.37	22.92	16.62	55.16	10.87	36.40	31.74	14.98	13.29
유의성	***	***	***	***	***	***	***	***	***

<88>

【표 7c】

본 발명의 식품 첨가물의 육류 및 어류에 있어서 연육효과 및 소취효과

	고등어조림			생선매운탕		김치찌개	
	냄새	단단한 정도	맛	냄새	맛	냄새	맛
1	1.2125 ^c	1.5125 ^a	7.9875 ^a	1.6000 ^b	8.1500 ^a	1.8875 ^b	8.5375 ^a
2	2.2750 ^b	1.4500 ^a	7.9250 ^a	1.9250 ^b	7.8875 ^a	2.0375 ^b	7.8000 ^b
3	3.5125 ^a	1.8000 ^a	7.2000 ^b	3.3625 ^a	6.3125 ^b	4.5750 ^a	6.3125 ^c
F치	29.87	1.41	4.36	16.29	26.43	44.33	22.00
유의성	***		*	***	***	***	***

<89> 1) 1: 본 발명의 식품 첨가물 첨가, 2: 정중 첨가, 3: 대조군

<90> 2) 던칸의 다중범위시험: 한 특성치에서 각 시료들끼리 비교하여 같은 알파벳 기호가 아니면 서로 유의차 있음($p < 0.05$).

<91> 3)유의성: *** ; 유의성있음 ($p < 0.001$), * : 유의성있음 ($p < 0.1$)

【발명의 효과】

<92> 본 발명의 락토바실러스 파라카제이는 내산성, 내담즙성 및 인체 안정성이 우수하며, 병원성 세균 억제활성을 지니고 있으며 장내 균총을 변화시켜 유익한 세균을 증가하게 하고 설사 발생도를 감소시키는 효과가 있고 악취물질을 분해하는 소취효과 및 육류 및 생선 조리시 연육효과효과가 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC 10132BP).

【청구항 2】

락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC 10132BP)의 발효액.

【청구항 3】

락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC 10132BP) 또는 이의 발효액을 포함하는 동물의 장질환의 예방 및 치료를 위한 생균제 조성물.

【청구항 4】

제 3항에 있어서, 상기 장질환은 병원성 미생물에 의한 감염성 설사, 위장염, 염증성 장질환, 신경성 장염 증후군, 소장 미생물 과성장증 및 장 급이성 설사임을 특징으로 하는 생균제 조성물.

【청구항 5】

락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC 10132BP) 또는 이의 발효액을 포함하는 사료조성물.

【청구항 6】

락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC 10132BP)또는 이의 발효액을 포함하며 악취발생원을 분해함을 특징으로 하는 소취제 조성물.

【청구항 7】

락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC 10132BP) 또는 이의 발효액을 포함하는 식품 조성물.

【청구항 8】

락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC 10132BP)의 발효액의 제조방법.

【청구항 9】

제8항에 있어서, 과즙에 락토바실러스 파라카제이 viro-01(KCTC 10132BP)를 접종하고, 이를 온도범위 15℃ 내지 45℃에서 혐기적으로 발효한 다음, 산도가 2.0 내지 5.0이 될 때까지 폭기하면서 20℃ 내지 40℃로 발효하는 것을 특징으로 하는 제조방법

【청구항 10】

제 8항에 있어서, 1차 유산균 발효액을 회수하고 남아 있는 균체 및 침전물에 정제수를 가하여 1배 내지 10배 비율로 희석하고, 이를 재발효한 후, 여기에 정제수를 가하여 1배 내지 10배 비율로 희석하고 숙성시키는 것을 특징으로 하는 제조방법.

【서열목록】

<110> VIROBACT INC.
 <120> Novel Lactobacillus sp. Strain And Using The Same
 <160> 1
 <170> KopatentIn 1.71
 <210> 1
 <211> 1525
 <212> DNA
 <213> Lactobacillus paracase viro-01
 <220>
 <221> rRNA
 <222> (1)..(1525)
 <223> Sequence of 16S rRNA
 <400> 1

catgaacgct ggcggcgtgc ctaatacatg caagtcgaac gagttctcgt tgatgatcgg	60
tgcttgcacc gagattcaac atggaacgag tggcggacgg gtgagtaaca cgtgggtaac	120
ctgcccttaa gtgggggata acatttggaa acagatgcta ataccgcata gatccaagaa	180
ccgcatggtt ctitggctgaa agatggcgta agctatcgct tttggatgga cccgcggcgt	240
attagctagt tggtaggta atggctcacc aaggcgatga tacgtagccg aactgagagg	300
ttgatcggcc acattgggac tgagacacgg cccaaactcc tacgggaggc agcagtaggg	360
aatcttccac aatggacgca agtctgatgg agcaacgccg cgtgagtga gaaggctttc	420
gggtcgtaaa actctgttgt tgaagaagaa tggtcggcag agtaactgtt gtcggcgtga	480
cggatccaa ccagaaagcc acggctaact acgtgccagc agccgcggtg atacgtaggt	540
ggcaagcgtt atccggattt attgggcgta aagcgagcgc aggcgggttt ttaagtctga	600
tgtgaaagcc ctccggcttaa ccgaggaagc gcatcggaag ctgggaaact tgagtgcaga	660
agaggacagt ggaattccat gttagcgggt gaaatcgta gatatatgga agaaccag	720
tggcgaaggc ggctgtctgg tctgtaactg acgctgaggc tcgaaagcat gggtagcgaa	780
caggattaga taccctggta gtccatgccg taaacgatga atgctaggtg ttggagggtt	840
tccgcccttc agtgccgcag ctaacgcatt aagcattccg cctggggagt acgaccgcaa	900
ggttgaaact caaaggaatt gacgggggcc cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt	960
cgaagcaacg cgaagaagct taccaggtct tgacatcttt tgatcacccg agagatcagg	1020
tttccccttc gggggcaaaa tgacaggtgg tgcatggttg tcgtcagctc gtgtcgtgag	1080
atgttgggtt aagtcccgca acgagcgcaa cccttatgac tagttgccag catttagttg	1140
ggcactctag taagactgcc ggtgacaaac cggaggaagg tggggatgac gtcaaatcat	1200
catgccctt atgacctggg ctacacacgt gctacaatgg atggtacaac gagttgcgag	1260
accgcgaggt caagctaata tcttaaagcc attctcagtt cggactgtag gctgcaactc	1320
gcctacacga agtcggaatc gctagtaatc gcggatcagc acgcccggt gaatacgttc	1380
ccgggccttg tacacaccgc ccgtcacacc atgagagttt gtaacacccg aagccggtgg	1440
cgtaaccctt ttagggagcg agccgtctaa ggtgggacaa atgattaggg tgaagtcgta	1500
acaaggtagc cgtaggagaa cctgc	

1525